

**В.В. Вит****Л.Н. Величко****Е.И. Драгомирецкая**

*Одесский институт глазных  
болезней и тканевой терапии  
им. акад. В.П. Филатова  
АМН Украины, Одесса, Украина*

## ВОЗМОЖНОСТЬ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КЛЕТОЧНОГО ТИПА УВЕАЛЬНЫХ МЕЛАНОМ БЕЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНВАЗИВНЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ

**Ключевые слова:** увеальная меланома, клеточный тип, клиничко-морфологические, иммунологические показатели, дискриминантный анализ.

**Резюме.** С помощью дискриминантного анализа установлена возможность определения клеточного типа меланомы увеального тракта в процессе проведения комбинированного (фотокоагуляция + брахитерапия) лечения. Разработана высокозначимая ( $\lambda = 0,08$ ;  $p = 0,002$ ) дискриминантная модель, включающая ряд клинических (степень пигментации, пол, скорость роста меланомы) и иммунологических (количество Т- и В-лимфоцитов, процент Т-хелперов и др.) показателей. Особое место в модели занимают признаки, в наибольшей степени отражающие биологические особенности увеальных меланом различного клеточного состава, а именно — скорость изменения размера опухоли в процессе лечения и изменение показателей клеточного иммунитета.

### ВВЕДЕНИЕ

Наиболее важными критериями определения злокачественности увеальных меланом являются клеточный тип опухоли, степень ее пигментации, размер, степень инвазии склеры, митотическая активность, локализация переднего края опухоли, инвазия зрительного нерва [1–4]. При прогнозировании исхода заболевания необходимо также учитывать скорость увеличения размера опухоли. Особенно четко это проявляется в процессе проведения органосохраняющего лечения [1, 5]. Наибольшее прогностическое значение, независимо от применяемого метода лечения, имеет клеточный тип опухоли [1, 5, 6]. Именно по этой причине важным с клинической точки зрения является определение клеточного типа опухоли до начала лечения, что имеет большое значение для разработки тактики лечения и режима наблюдения за больным.

Ранее предпринимались многочисленные попытки определения клеточного типа увеальных меланом с помощью различных методов, в первую очередь ультразвукового [7], а также на основании учета особенностей локализации опухоли в увеальном тракте, степени пигментации, формы роста опухоли, степени ее васкуляризации и др. Но, к сожалению, до сих пор эти попытки не увенчались успехом. Точное определение клеточного типа пока возможно лишь при использовании инвазивных методов, а именно микроскопического исследования участка опухоли или клеток, полученных в результате тонкоигольной пункционной биопсии [8]. Несмотря на успешное применение этого метода, существует риск того, что во время пункции опухоли возможна стимуляция роста меланомы, возникновение метастазов или инвазии по ходу раневого канала. Это обстоятельство существенно ограничивает возможность широкого применения биопсии. В

настоящее время продолжают попытки разработать способы определения клеточного типа увеальной меланомы, используя неинвазивные методы. В этой связи нам представилось целесообразным провести исследование, направленное на выявление возможности определения клеточного типа увеальных меланом на основании учета комплекса клинических, морфологических и иммунологических показателей у больных в процессе комбинированного лечения (фотокоагуляция + брахитерапия). По нашим данным, именно в процессе органосохраняющего лечения (фотокоагуляция, криокоагуляция, брахитерапия, фотокоагуляция + брахитерапия) меланомы различного клеточного типа в наибольшей степени проявляют свои биологические особенности, что выражается в изменении их клинического течения. Это проявляется типом реакции на лечебное воздействие (регрессия или прогрессия), различной скоростью изменения размера, а также особенностями иммунной реакции организма больного на наличие опухоли и ее повреждение [1, 9, 10–12]. Тем не менее, на основании анализа только отдельных признаков меланом (одно- или двухфакторный анализ) определить клеточный тип опухоли не представляется возможным.

Цель исследования — изучение возможности прогнозирования клеточного типа опухоли у больных с увеальной меланомой в процессе органосохраняющего лечения (фотокоагуляция + бета-аппликационная терапия) с помощью дискриминантного анализа комплекса клинических и иммунологических показателей.

### ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения многофакторного анализа была сформирована система управления базой данных. В этой базе в абсолютных или относительных вели-

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

чинах регистрировали: размер (мм), возраст (годы), иммунологические показатели, количество Т- и В-лимфоцитов (тыс./мкл), количество Т-супрессоров, Т-хелперов (%). Часть качественных признаков была формализована с градацией в соответствии с биологическим значением изменения признака (степень пигментации, степень инвазии склеры и т. п.). Всего учтено 39 клинических, гистоморфологических и иммунологических признаков. Линейные размеры опухоли регистрировали каждые 3 мес в динамике лечения. Затем линейные размеры меланомы переводили в объемные единицы при помощи таблиц Gutgoff, Hallerman [13]. На основании этих данных рассчитывали скорость изменения объема опухоли, наблюдаемую на протяжении первых 3, 6 мес и т. д. после начала лечения. Скорость изменения объема меланомы вычисляли по формуле:  $V = (\text{объем меланомы через 3 мес} - \text{первичный объем})/3$ .

Для проведения анализа было отобрано 95 больных с установленным клеточным типом опухоли, который был определен в результате гистологического исследования энуклеированных глазных яблок. Всем больным проведен комплекс клинических и иммунологических исследований, результаты которых использовали в анализе. Энуклеация глаза была произведена в результате недостаточной эффективности лечения (продолженный рост опухоли), развития осложнений, отказа больного от лечения.

По клеточному типу изученные опухоли распределялись следующим образом: веретенклеточные А опухоли выявлены у 2,1% больных, веретенклеточные Б — у 31,6%, веретенклеточные АБ — у 30,5%, смешанные — у 31,6%. Эпителиоидных меланом было 4,2%. Меланомы веретенклеточного А и эпителиоидного строения были исключены из статистического исследования ввиду их малочисленности.

Выявляли признаки, определяющие различие между тремя клеточными типами увеальных меланом (веретенклеточными А–Б, Б и смешанными), а также строили математическую модель, позволяющую определять клеточный тип опухоли в процессе органосохраняющего лечения (фотокоагуляция + брахитерпия).

Для классификации мы применили дискриминантный анализ, использующий линейные классифицирующие функции Фишера [13]:

$$N_k = b_{k0} + b_{k1} * x_1 + b_{k2} * x_2 + b_{k3} * x_3 + \dots + b_{kp} * x_p,$$

где  $N_k$  — значение функции для класса  $k$ ,  $b_{k1...p}$  — коэффициенты, которые необходимо определить,  $x_{1...p}$  — значение параметров.

Необходимые математические расчеты проводили с помощью биомедицинского статистического пакета программ STATISTICA 5.5.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первой стадии исследования выявлены клинические и иммунологические признаки (факто-

ры), наиболее различающиеся у больных с меланомами различного клеточного типа, т. е. обладающие наибольшими дискриминирующими свойствами. Для этих целей использован пошаговый метод включения переменных в дискриминантную модель [15]. В табл. 1 представлены 9 из 39 переменных, имеющих наибольшие значения F-критерия, а также уровень значимости на каждом шаге (толерантность для переменных, входящих в модель, задана не ниже 0,01). Как видно из данных таблицы, не все переменные имеют высокое значение F-критерия, так как мы сознательно не ограничивали условия включения переменных в модель. Такие иммунологические показатели, как количество Т-хелперов и В-лимфоцитов, имеют незначимую оценку F-критерия, однако нас интересовала их роль в совместном участии всех признаков классификационной модели.

Все переменные, представленные в табл. 1 ( $X_1, \dots, X_9$ ), были использованы для построения дискриминантных функций Фишера. Для этого по методике Ким, Клекка и др. [14] определяли значения коэффициентов  $B_0, \dots, B_9$  (см. формулу в разделе «Объект и методы исследования»). В табл. 2 представлены значения коэффициентов и свободного члена для расчета дискриминантных функций Фишера.

Для определения принадлежности конкретного больного к тому или иному классу полученные значения коэффициентов ( $B_1$ – $B_9$ ) умножали на зна-

Таблица 1  
Оценка переменных (факторов), обладающих наибольшим дискриминирующим свойством (число больных с полным набором данных по включенным 9 переменным —  $n = 24$ )

Переменные, вошедшие в модель	F-критерий	Уровень значимости (p)
$X_1$ Степень пигментации	7,43	0,007
$X_2$ Пол	13,63	0,001
$X_3$ Количество Т-хелперов	1,48	0,264
$X_4$ Количество В-клеток	1,66	0,228
$X_5$ Возраст	3,44	0,063
$X_6$ Иммунорегуляторный индекс	7,95	0,006
$X_7$ Количество Т-супрессоров	12,31	0,001
$X_8$ Количество Т-клеток	4,66	0,030
$X_9$ Скорость изменения роста опухоли за первые 3 мес	4,28	0,037

Таблица 2  
Значение коэффициентов для расчета дискриминантных функций Фишера для 3 типов увеальных меланом

Коэффициент	Для класса 1 (веретенклеточные Б меланомы)	Для класса 2 (веретенклеточные АБ меланомы)	Для класса 3 (смешанные меланомы)
$B_1$ (степень пигментации)	-2,48	12,54	11,16
$B_2$ (пол)	25,34	44,00	40,41
$B_3$ (количество Т-хелперов)	1,88	2,57	2,460
$B_4$ (количество В-клеток)	-0,047	-0,01	-0,0089
$B_5$ (возраст)	,87	1,21	1,23
$B_6$ (иммунорегуляторный индекс)	1,77	4,02	3,404
$B_7$ (количество Т-супрессоров)	3,86	6,53	5,830
$B_8$ (количество Т-клеток)	-1,54	-2,59	-2,31
$B_9$ (скорость изменения размера опухоли за первые 3 мес)	-13,44	-21,44	-19,03
$B_0$ (константа)	-63,07	-103,36	-97,026

чение переменной ( $X_1, \dots, X_9, \dots$ ) и получали значения дискриминантных функций Фишера:

$$H_1 = -63,07 - 2,48X_1 + 25,34X_2 + 1,88X_3 - 0,0047X_4 \dots$$

$$H_2 = -103,36 + 12,54X_1 + 44,0X_2 + 2,57X_3 - 0,001X_4 \dots$$

$$H_3 = 97,026 + 11,16X_1 + 40,41X_2 + 2,46X_3 - 0,0089X_4 \dots$$

Полученные значения  $H_1, H_2, H_3$  позволяют включить конкретного больного в один из трех классификационных классов (групп). Больного включали в группу, где рассчитанное значение  $H$  было максимальным. Оценкой классификационной значимости модели служила статистика лямбда — Уилкса ( $\lambda$ ). Этот показатель стремится к нулю при хорошей дискриминации. В нашей модели  $\lambda = 0,08$  ( $p = 0,002$ ), т. е. математическая модель оценивается как высокозначимая.

Аналогичный результат получен нами также при применении метода с использованием канонического анализа [16, 17]. Этот метод позволяет графически представить результат дискриминации на 3 аналогичных класса путем расчета координат каждого объекта выборки в координатах канонических переменных (рисунок). Определены также координаты центров каждого класса. Так, координаты центров для больных с веретеночлеточными Б меланомами составляет: 3,66 и 0,40, для больных с веретеночлеточными АБ меланомами: -1,95 и 0,76, а со смешанными меланомами: -0,48 и -1,03. На графике центры классов отмечены +. Как видно на рисунке, меланомы веретеночлеточного Б типа существенно отличаются от остальных в координатах первой канонической переменной. Различия между веретеночлеточными АБ и смешанными меланомами выявляются в координатах второй канонической переменной. На рисунке также видно, что безошибочно были классифицированы все больные с меланомами веретеночлеточными Б и смешанного строения. В группе меланом веретеночлеточного АБ строения только один больной ошибочно отнесен к группе смешанного клеточного типа.

Мы рассчитали также апостериорные вероятности принадлежности каждого больного к трем выделенным классам, используя следствие теоремы Баеса [17]. В этом фрагменте исследования установлено, что все объекты изучаемой выборки имели высокую вероятность принадлежности к своему классу, за исключением одного больного, классифицированного неверно. Его расчетные вероятности были: для класса 2 — 0,23, для класса 3 — 0,76 и для класса 1 — 0,01.

Нами были обследованы 17 больных с увеальной меланомой, которым недавно было проведено органосохраняющее лечение. У всех больных в базе имелся полный набор признаков, необходимых для расчета вероятности принадлежности к одному из трех классов по клеточному типу. Для всех этих больных мы рассчитали вероятности принадлежности меланом к веретеночлеточным Б, АБ и смешан-



**Рисунок.** Классификация больных в зависимости от клеточного типа увеальной меланомы, проведенная с помощью метода дискриминантного анализа

ным. У 3 больных вследствие неэффективности проводимого органосохраняющего лечения была проведена энуклеация глаза. Определенный с помощью полученной нами математической модели клеточный тип опухоли совпал с клеточным типом, установленным микроскопически, у всех 3 пациентов. При этом у больного К. клеточный тип предсказан с вероятностью 1,00 (веретеночлеточная Б меланом), у больного П. — с вероятностью 0,60 (смешанная меланом), а у больного Р. — с вероятностью 0,99 (смешанная меланом).

Таким образом, в результате исследования установлено, что существует реальная возможность определения клеточной принадлежности увеальных меланом без использования инвазивных (биопсия) методов диагностики. Такая возможность реализуется благодаря, во-первых, использованию дискриминантного анализа и, во-вторых, введению в анализ показателей скорости изменения размера опухоли в процессе лечения, определяемых на ранних стадиях наблюдения за больными. Именно этот показатель отражает биологические особенности меланомы, выражающиеся в первую очередь клеточным типом опухоли. В дискриминантную функцию в качестве одного из важнейших компонентов вошли показатели клеточного иммунитета организма больного в процессе лечения. Это также можно объяснить, поскольку после воздействия на меланому различных физических факторов происходит изменение взаимоотношения опухоли и организма в результате нарушения гематофтальмического барьера, модификации опухолевых антигенов и массивном их выведении в кровяное русло. Можно ожидать, что введение в анализ специфических для увеальной меланомы иммунных показателей повысит диагностические возможности созданной математической модели. Полученные положительные результаты исследования свидетельствуют также о том, что различные варианты многомерного анализа могут лечь в основу создания автоматизированных экспертных прогностических и диагностических систем, значительно упрощающих установление точного диагноза увеальной меланомы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. **Вит ВВ.** Патологическая анатомия и лечебный патоморфоз пигментных новообразований увеального тракта глаза человека. [Автореф. дис ... д-ра. мед наук] 1986. 20 с.
2. **Paul EV, Parnell BL, Fraker V.** Prognosis of the choroidal and ciliary body melanoma. *Ophthalmol Clin* 1962; **2**: 387–402.
3. **McLean MJ, et al.** Prognostic factors in small malignant melanomas of choroid and ciliary body. *Arch Ophthalmol* 1977; **9**: 48–58.
4. **Janoff M, Fine A.** Ocular pathology. A text and Atlas. Maryland, New York.: Harper and Row 1975. 746 p.
5. **Вит ВВ, Терентьева ЛС, Раиф Абдул-Латиф Салех.** Изменение размеров меланом цилиарного тела и хориоидеи при ксеноновой фотокоагуляции и прогностическое значение этих показателей. *Офтальмол журн.* 1999; (5): 299–305.
6. **Раиф Абдул-Латиф Салех, Вит ВВ, Терентьева ЛС.** Зависимость показателей выживания больных увеальными меланомами от особенностей изменения размера опухолей в процессе комбинированного лечения. *Офтальмол журн.* 2000; (6): 77–82.
7. **Romijn RL, Tijssen JM, Oosterveld VJ, Verbeek AM.** Ultrasonic differentiation of intraocular melanomas and estimation methods. *Ultrason Imaging* 1991; **13** (1): 27–55.
8. **Eide N, Syrdalen P, Scheie D, et al.** Uveal melanomas with optic nerve extension: report of two cases diagnosed by transvitreal biopsy, one of them with a multicentric tumour. *Acta Ophthalmol Scand* 2001 Jun; **79** (3): 322–5.
9. **Вит ВВ.** Прогностическое значение морфологических признаков иммунного ответа при увеальных меланобластомах различного клеточного типа. *Арх патол* 1983; (7): 2–30.
10. **Малецкий АП, Вит ВВ, Ваничкин АА.** Особенности иммунного статуса больных увеальными меланомами в процессе проведения органосохранного лечения. *Офтальм журн* 1989; (6): 341–5.
11. **Величко ЛН, Малецкий АП, Вит ВВ, Терентьева ЛС.** Состояние системы естественной противоопухолевой резистентности у больных увеальной меланомой при проведении органосохранного лечения. *Офтальмол журн* 1998; (2): 131–7.
12. **Малецкий АП, Величко ЛН, Вит ВВ.** Диагностическая ценность показателей иммунологического статуса у больных с инвазией увеальной меланомы в слои склеры. *Укр мед альманах* 2000; **3** (1): 116–7.
13. **Gutgoff R, Hallerman D.** Ruthenium irradiation of Chjroidal melanomas. *Lomatsch PK, Blodi FR.* Intraocular tumors: Berlin, 1983: 302–06.

14. **Дж-ОКим, Клекка ЧУ и др.** Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. М: 1989: 113–4.
15. **Боровиков ВП.** Популярное введение в программу STATISTICA. М: 1998. 169 с.
16. **Афифи Эйзен АС.** Статистический анализ. Подход с использованием ЭВМ. М: Мир, 1982. 336 с.
17. **Дюк В.** Обработка данных на ПК в примерах. Питер, 1997: 178–87.

**POSSIBILITY TO PREDICT THE CELL TYPE OF UVEAL MELANOMA WITHOUT RESORT TO INVASIVE DIAGNOSTIC METHODS**

*V.V. Vit, L.N. Velichko, E.I. Dragomiretskaya*

**Summary.** *Application of the discriminant analysis shows that it is possible to define the cell type of melanoma of uveal tract of the eye in the process of combined (photocoagulation + brachytherapy) treatment. A highly reliable ( $\lambda = 0,08$ ;  $p = 0,002$ ) discriminant model was elaborated, involving a number of both clinical (pigmentation level, gender, melanoma growth rate) and immunological (number of T and B lymphocytes, T helper rate, etc.) indicators. In this model, especially important are those traits that most pronouncedly reflect the biological peculiarities of uveal melanomas of various cellular compositions, namely — the pace of tumor size growth in the process of treatment and changes in cell immunity indicators.*

**Key Words:** uveal melanoma, cell type, clinical and morphological, immunological indicators, discriminant analysis.

**Адрес для переписки:**

Величко Л.Н.  
65061, Одесса, бульв. Французский, 49/51  
Одесский институт глазных болезней и тканевой терапии им. акад. В.П. Филатова АМН Украины